

## Il "Maturity Onset Diabetes of the Young" (MODY)

**Fabrizio Barbetti**

Dipartimento di Medicina Interna, Univ. Tor Vergata e Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS, e Fondazione Parco Biomedico S Raffaele, Roma

### ABSTRACT

**The Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY).** The Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) is a monogenic, autosomal dominant form of diabetes mellitus which is readily distinguishable, on a clinical ground, from the common, polygenic forms currently designated as type 1 (T1D) and type 2 (T2D) diabetes. MODY can be caused by mutations in 6 different genes, but a percentage varying from 15 up to 45% of patients clinically defined as MODY do not bear a mutation in any of the known MODY genes. In most MODY patients a mutation in the enzyme glucokinase (*GCK/MODY2*) or in the transcription factor hepatocyte nuclear factor-1 $\alpha$  (*HNF-1 $\alpha$ /MODY3*) is detected, the relative frequency depending on the population studied and on the clinical setting (pediatric versus adult diabetes clinic) where the index case is referred. Several studies have demonstrated that the clinical features and the metabolic profile of patients bearing a MODY 2 mutation allow the clinician to differentiate them from patients with a defect of the *TCF1 (MODY3)* gene. Moreover, MODY3 has been one of the first examples of pharmacogenomics in the area of diabetes. Recently, it has been also demonstrated that homozygous or compound heterozygous mutations of the *GCK* lead to a very rare form of monogenic diabetes called Permanent Neonatal Diabetes Mellitus. MODY is a useful model of diabetes caused by an array of defects of the pancreatic beta cell.

### INTRODUZIONE

Il diabete mellito è un coacervo di varie condizioni cliniche tutte accomunate da un aumento del glucosio plasmatico. La classificazione clinica del diabete mellito subisce da anni costanti evoluzioni, come pure continuano a subire "aggiustamenti" i suoi criteri diagnostici da parte di organismi come l'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) o la American Diabetes Association (ADA). Di tali revisioni e raccomandazioni sono oggetto anche quei quadri considerati intermedi tra diabete e normalità come la "alterata tolleranza al glucosio" (impaired glucose tolerance, IGT), condizione accertabile solamente con il test da carico orale di glucosio (OGTT) a cui è stata poi affiancata la "alterata glicemia a digiuno" (impaired fasting glucose, IFG), il cui valore soglia è stato recentemente (2003) rivisto al "ribasso" (da 110 a 100 mg/dl)<sup>a</sup>.

Sul piano della classificazione la comunità scientifica internazionale riconosce due tipi principali di diabete, il tipo 1 (T1D) ed il tipo 2 (T2D), che assieme costituiscono la stragrande maggioranza dei casi di diabete di comune riscontro ambulatoriale od ospedaliero. Il T1D (che ha sostituito la vecchia definizione di diabete "insulino-dipendente" o giovanile) comprende fundamentalmente il diabete di origine autoimmune, in cui la distruzione delle beta cellule pancreatiche ad opera di linfociti T autoreattivi determina un deficit assoluto di insulina. Il T1D esordisce tipicamente nell'infanzia-adolescenza, ma

può insorgere anche in età adulta. Il T2D (che ha sostituito la vecchia definizione di diabete "non insulino-dipendente", o dell'adulto) comprende forme simili sul piano clinico, in cui si riscontra una combinazione -in vari gradi- tra una alterata funzione biologica dell'insulina sui tessuti bersaglio ("insulino-resistenza") ed una insufficienza relativa della beta cellula, che non è in grado di sostenere indefinitamente un aumento di secrezione compensatorio dell'insulino-resistenza. Il T2D insorge tipicamente nella quinta-sesta decade di vita, ma viene attualmente riscontrato, seppur raramente, anche negli adolescenti. Sia il T1D che il T2D vedono una forte predisposizione genetica interagente con le condizioni ambientali. Sul piano genetico tuttavia, sia il T1D che il T2D sono forme di diabete poligenico, in cui non è riconoscibile una ereditarietà di tipo mendeliano classico.

Vi sono tuttavia dei casi di diabete che possono originare da difetti in un solo gene (per cui si va affermando la definizione di diabete monogenico), in cui rientrano delle forme della malattia che nella classificazione di tipo "eziologico" proposta dall'ADA vengono divise per comodità in difetti genetici della azione insulinica (o forme genetiche di insulino-resistenza) e difetti genetici della funzione beta cellulare. Rientra in questa seconda categoria il cosiddetto "Maturity Onset Diabetes of the Young" (MODY), una forma di diabete ad ereditarietà autosomica dominante con insorgenza prima dei 25 anni di età. Questa definizione clinica fu elaborata per la prima volta dal Dr. Tattersall e dal Prof. Fajans (Un. di

<sup>a</sup> L'abbassamento della soglia glicemica da 110 a 100 mg/dL (proposto dalla ADA) non è stato ancora accettato dalla comunità diabetologica italiana. Va tuttavia menzionato che la soglia di 100 mg/dL che si era data nel 1997 la Soc. Italiana di Endocrinologia e Diabetologia Pediatrica (SIEDP) per lo studio "iperglicemia occasionale" è stata molto utile per identificare molti soggetti con mutazioni GK tra i casi pediatrici

Chicago) negli anni 1974-1975 sulla base dei loro studi su famiglie in cui avevano osservato una trasmissione verticale del diabete su più generazioni (fino a 5!)<sup>1-3</sup>. Nel suo articolo del 1975, Tattersall rilevava che: 1) l'85% dei soggetti da lui classificati come MODY aveva un genitore con diabete; 2) il 46% delle famiglie aveva una trasmissione verticale del diabete per 3 generazioni consecutive; 3) il 53% dei fratelli sottoposti ad accertamenti rientravano nella categoria allora in uso di "diabete latente" e 4) che la maggior parte dei pazienti NON necessitava di terapia insulinica. Tutte queste caratteristiche distinguevano inequivocabilmente il MODY da quello che era allora denominato diabete giovanile (juvenile onset diabetes, JOD). La definizione originale specificava che nei soggetti affetti non vi era necessità di terapia insulinica per almeno due anni dopo l'esordio (tabella 1, poi portata a 5 anni), un criterio che attualmente sembra aleatorio, ma che ben si adattava alla osservazione sulle famiglie originali, in cui molti soggetti con diabete insorto prima dei 20 anni rispondevano - contrariamente alla maggioranza dei casi "sporadici" (T1D)- alla terapia orale con le solfaniluree. Deve essere inoltre ricordato che la scoperta degli autoanticorpi del T1D ad opera del Prof. Bottazzo, in seguito largamente utilizzati a fini diagnostici, è appunto di quegli anni.

Con questa definizione pertanto, valida nella sua prima parte anche oggi, si veniva ad inquadrare clinicamente una forma di diabete distinguibile sia dal diabete "insulino-dipendente" che dal diabete "non insulino-dipendente" e della cui esistenza si era avveduto già Joslin nei primi anni del '900. Tuttavia si è dovuto poi attendere il 1991 per arrivare a mappare il primo gene MODY sul cromosoma 20 (MODY 1)<sup>4</sup> ed 1992 per il secondo gene sul cromosoma 7 (MODY 2)<sup>5</sup>. Contestualmente al mappaggio del secondo gene sono state identificate le prime mutazioni MODY 2 localizzate nel gene della glucochinasi<sup>6,7</sup> enzima espresso essenzialmente nel pancreas endocrino e nel fegato, ma anche in alcuni nuclei nel sistema nervoso centrale ed in cellule di natura endocrina del sistema digerente. Nel 1995 sono state scoperte le mutazioni MODY 1 e MODY 3 nel contesto di due geni codificanti fattori di trascrizione denominati rispettivamente HNF4-alfa e HNF1-alfa, anch'essi a prevalente espressione nel pancreas endocrino e nel fegato<sup>8,9</sup>. Studi successivi hanno stabilito come le mutazioni nei geni MODY 2 e MODY 3 siano quelle più frequenti ed accertato l'esistenza di altri 3 geni MODY<sup>10-12</sup> due dei quali rarissimi<sup>13-15</sup> ed un altro meno raro (HNF1- $\alpha$  o MODY 5) e ben separabile dagli altri su base clinica<sup>16-18</sup>. L'esame di tutti e 6 questi geni (o dei

geni MODY da 1 a 3 o da 1 a 5) su famiglie clinicamente classificate come MODY con criteri stringenti ha portato tuttavia alla conclusione che altri geni MODY mancano all'appello, visto che le famiglie risultate negative alla ricerca variano, a seconda delle casistiche, da un 14 ad un 45%<sup>19-21</sup>. Ed infatti recentemente sono stati identificati 4 putativi loci MODY<sup>22</sup> e rare mutazioni in altri 3 geni i cui portatori hanno caratteristiche cliniche ed una ereditarietà sovrapponibili al MODY<sup>23-25</sup>, sia pure in un caso con caratteristiche fenotipiche precipue<sup>25</sup>.

## MATERIALI E METODI

### Pazienti

Al nostro laboratorio vengono indirizzati casi che vengono identificati come casi MODY prevalentemente in ambiente pediatrico, ma anche alcuni casi inizialmente non inquadrati in modo appropriato e solo successivamente classificati come MODY in età adulta.

I casi che vengono ammessi allo screening dei due più frequenti geni MODY, la glucochinasi (GCK) e lo HNF1-alfa (TCF1) rispondono ai seguenti criteri di inclusione: insorgenza del diabete o di altre forme di intolleranza al glucosio (vedi oltre) prima dei 25 anni di età (la quasi totalità prima dei 18 anni), assenza degli autoanticorpi diagnostici di T1D (ICA, anti IA-A2, anti-GAD, IAA), criterio che ha sostituito la non necessità di terapia insulinica per 5 anni, decisamente obsoleto, ed un genitore affetto da diabete, preferibilmente, ma non obbligatoriamente, con scoperta prima del 25° anno di età (naturalmente l'iperglicemia, se asintomatica può precedere anche di molti anni la scoperta).

Quest'ultimo criterio, compatibile con una ereditarietà autosomica dominante, ma non stringente come le canoniche 3 generazioni di affetti consecutive ("in verticale"), si è rivelato nel tempo sufficientemente adeguato. Nel corso degli anni e di vari studi i criteri di base sono rimasti i medesimi anche se sono intervenuti aggiustamenti (vedi oltre). La più cospicua eccezione è stato lo screening del gene GCK in soggetti senza familiarità per il diabete effettuato nel corso dei primi studi. Oltre alla casistica raccolta con queste modalità di inclusione, che eccede largamente le 250 famiglie, abbiamo iniziato a studiare successivamente un'altra forma di diabete monogenico, denominato "diabete neonatale permanente" (permanent neonatal diabetes mellitus o PNDM) sulla scorta del ragionamento che geni MODY potessero dar luogo in alcuni casi a questo tipo di diabete.

Questa predizione, come vedremo, si è rivelata esat-

### Tabella 1

#### MODY: definizione

- 1) Ereditarietà di tipo autosomico dominante
- 2) Insorgenza del diabete prima del 25° anno di età
- 3) Il probando non necessita di terapia insulinica per i primi 5 anni dalla diagnosi\*

\*Tale criterio è da ritenersi ormai obsoleto: la negatività degli autoanticorpi tipici del diabete tipo 1 nel probando è un utile e precoce indicatore di una patologia di origine non autoimmune

ta. La definizione corrente di PNDM è di diabete con insorgenza nei primi 6 mesi di vita, che richieda almeno 2 settimane continuative di terapia insulinica. Come dimostrato dal nostro Gruppo di Studio nel 2002, è stato ormai definitivamente confermato che la quasi totalità dei pazienti con esordio del diabete nei primi sei mesi di vita non è di origine autoimmune<sup>26,27</sup>, ma causata da mutazioni in una molteplicità di geni (vedi oltre).

### Metodiche analitiche

I metodi per effettuare lo screening sono basati sulla analisi del DNA genomico tratto dai linfociti periferici ed amplificato per le porzioni codificanti dei geni (12 esoni del gene *GCK* ed 10 del gene *TCF1*) mediante reazione a catena di polimerasi (PCR). Negli anni '90 lo screening molecolare si è avvalso della tecnica della elettroforesi a gradiente di denaturanti (DGGE) e successivamente della HPLC denaturante (dHPLC), seguite da sequenza diretta del DNA dei frammenti di PCR con migrazione anormale e presenza di eteroduplex alla DGGE o con doppio, triplo o quadruplo picco alla dHPLC. Più recentemente lo screening viene effettuato con sequenza diretta di tutta la parte codificante dei geni e dei promotori; questo approccio è stato esteso anche a nuovi geni PNDM.

### RISULTATI E DISCUSSIONE

I risultati dei nostri studi si sono articolati nel corso degli anni. Al riscontro delle prime mutazioni eterozigoti inattivanti *GCK* (28), ha fatto seguito un studio effettuato su un largo gruppo di famiglie che ha stabilito come in oltre il 40% dei casi selezionati nell'ambulatorio pediatrico si venga ad identificare una mutazione *GCK*<sup>29</sup>, dati confermati successivamente da altri laboratori italiani<sup>30</sup>.

In quello studio fummo anche in grado di stabilire che in una elevata percentuale di casi non tipicamente MODY, per mancanza di un genitore affetto, ma con un fenotipo metabolico assolutamente sovrapponibile ai soggetti portatori di mutazioni *GCK* (modesta e stabile alterazione della glicemia a digiuno nell'intervallo dei 110-130 mg/dl ed assenza di sintomi) sono in effetti portatori di una mutazione *GCK* spontanea<sup>29</sup>. In alcuni di questi casi la diagnosi è servita a far sospendere una terapia insulinica del tutto inappropriata ed anzi nociva per il rischio concreto di ipoglicemie. I portatori di mutazioni *GCK* non necessitano infatti, nella maggior parte dei casi, di alcuna terapia.

Con quale meccanismo un deficit di glucochinasi comporta una stabile iperglicemia a digiuno? L'enzima *GCK* fosforila il glucosio dopo il suo ingresso nella beta cellula mediato dal trasportatore del glucosio *Glut-2* e fa parte, con esso, del sistema che fa da "sensore" per il glucosio per l'innescamento della secrezione insulinica al variare della glicemia plasmatica<sup>31,32</sup>. La *GCK* ha infatti una bassa Km (nell'ordine del millimolare) che "copre" le variazioni fisiologiche della glicemia tra digiuno e fase post-prandiale, contrariamente alle altre esochinasi che risiedono in altri tessuti (la I, la II e la III, con la II presen-

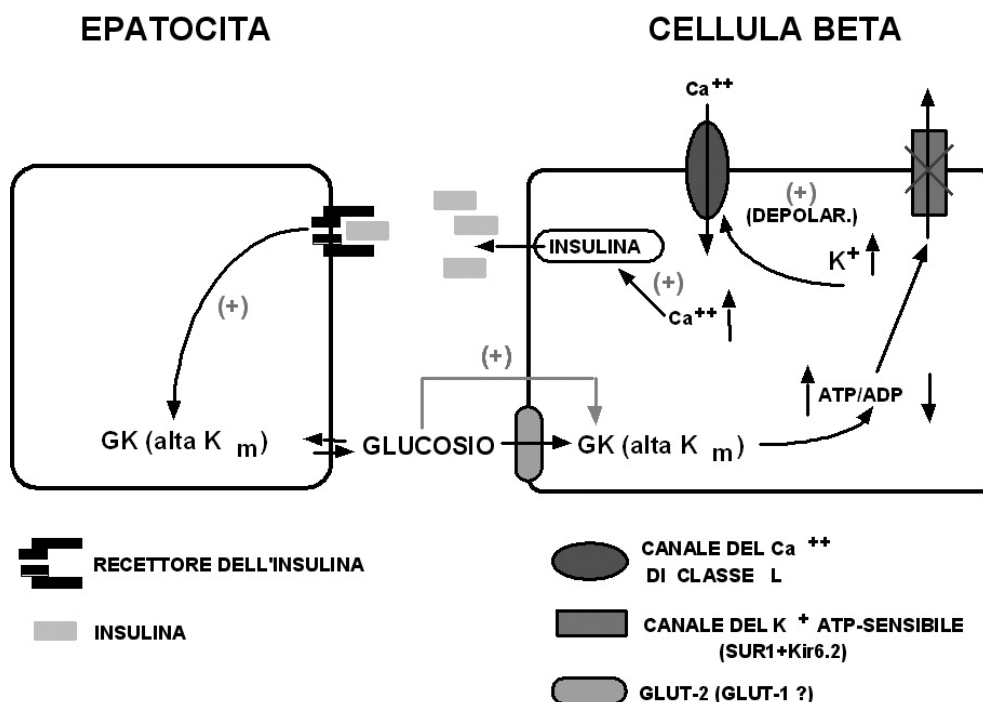
te anche nella beta cellula) e che hanno un'elevata affinità per il glucosio (nell'ordine del micromolare). Quando viene a ridursi anche di poco (diciamo meno del 50%) l'attività enzimatica della *GCK* nella beta cellula, la glicemia a digiuno (vale a dire nello stato stazionario) si innalza perchè il sistema che presiede alla secrezione indotta dal metabolismo del glucosio viene "risettato" verso l'alto (Fig. 1). La secrezione insulinica di conseguenza inizia quando si supera il livello di 120 mg/dl, piuttosto che a 90 mg/dl<sup>33</sup>. A livello epatico invece l'effetto principale è un difettivo "glucose disposal" sotto forma di glicogeno<sup>34</sup>. Il risultato finale è che al tempo 120' del carico orale di glucosio o dopo un pasto i livelli glicemici di un portatore di mutazione MODY 2 sono attestati attorno ai 150-160 mg/dl, vale a dire nella finestra dei valori della condizione IGT (>140 <199 mg/dl)<sup>29,35,36</sup>.

L'aumento della glicemia nei mutanti *GCK* si manifesta fin dalla nascita, con possibilità di errori nell'inquadramento diagnostico<sup>37</sup>. Le mutazioni eterozigoti inattivanti della glucochinasi possono essere identificate in qualsiasi parte del gene sotto forma di mutazioni con cambio di aminoacido (missenso), di microdelezioni o/e inserzioni con alterazione della sequenza di lettura e codone di stop prematuro, di mutazioni dei siti di splicing accettore o donatore con fenomeni di "exon skipping"<sup>38</sup> od altri difetti. Non essendovi mutazioni ricorrenti/frequenti nel gene *GCK*, si continuano a scoprire sempre nuove mutazioni. Non sono state invece segnalate sino ad ora delezioni maggiori del gene (che richiedano cioè la tecnica del Southern blot) o mutazioni nella regione regolatoria.

Ad oggi le differenti mutazioni identificate superano largamente le 150, sparse su tutto il gene a parte gli esoni 1 b e 1c che non sembrano essere bersaglio di mutazioni<sup>39</sup>. Qualsiasi sia il tipo di mutazione *GCK* ("grave" come nel caso di un codone di stop con eventuale degradazione dell'RNA messaggero, o con proteina troncata e del tutto inattiva, o "leggera" come nel caso di una variazione aminoacidica semiconservativa in cui l'attività enzimatica sia ridotta, ma non abolita) il fenotipo clinico è sempre il medesimo, come viene esemplificato nella tabella 2.

Le alterazioni metaboliche sono molto simili in tutti i portatori di mutazioni *GCK* e anche nell'ambito della stessa famiglia le generazioni "anziane" non presentano le complicanze croniche a lungo termine tipiche del diabete tipo 1 e 2 (naturalmente esistono rare eccezioni in cui si ipotizza la possibilità di geni modificatori)<sup>40-42</sup>. Le ragioni per cui accade questo sono state delucidate mediante lo studio di topi in cui sia stata ablata uno dei due alleli della *GCK* (topi knock-out eterozigoti, *GCK*<sup>+/-</sup>). In questi modelli animali, che riproducono perfettamente il fenotipo, l'aumento della glicemia conseguente alla ridotta quantità di *GCK* (dovuta al ridotto "dosaggio genico") determina un aumento della espressione dell'allele superstita con aumento dei livelli di *GCK* oltre l'atteso 50% e conseguente effetto compensatorio<sup>43,44</sup>.

Le mutazioni del gene *TCF1* sono, nella nostra casistica, piuttosto rare (attorno al 7%)<sup>45</sup>, mentre rappresentano, al contrario, la maggioranza nei paesi nord europei



**Figura 1**

*Ruolo della glucochinasi nella regolazione della secrezione insulinica indotta dal glucosio.*

La GK è la prima tappa limitante del processo glicolitico nell'ambito della beta cellula pancreatica e -accoppiata alla Glut2- costituisce il cosiddetto "glucose sensor". Una diminuzione del 50% della attività enzimatica è sufficiente a determinare l'innalzamento della glicemia a digiuno ("steady-state") ai valori tipici dei pazienti MODY2 (circa 125 mg/dl). I due promotori tessuto-specifici della GK sono regolati positivamente dal glucosio nella beta cellula e dall'insulina nell'epatocita. La GK inoltre ha due isoforme, una pancreatica ed una epatica che differiscono negli aminoacidi codificati da due esoni "1" inseriti in maniera tessuto-specifica con il meccanismo dello splicing alternativo

**Tabella 2**

*Caratteristiche cliniche di pazienti con mutazioni GCK e HNF1-α.*

Caratteristica clinica	Mutazione	
	GCK/MODY2	HNF1-α/MODY3
Iperglicemia, prima osservazione	Fin dalla nascita	Durante la adolescenza
Glicemia a digiuno (mg/dl) alla prima osservazione del paziente	Tra 100 e 140, stabile nel tempo	Variabile da normale ad elevata (oltre 200). In progressivo peggioramento
Glicemia a 120' del carico orale di glucosio	Nella maggior parte dei casi tra 130 e 180. Nessun caso esaminato in età pediatrica oltre i 210. Delta 0'-120' <50 mg/dl	Quasi sempre con valori diagnostici di diabete (>200). Delta 0'-120' >50 mg/dl
Chetosi	Mai (salvo episodi febbrili)	Possibile
Complicanze croniche	Rare	Come nel diabete tipo 2
Terapia stabilita dal diabetologo prima della diagnosi genetica	Dieta	Dieta (1/3), antidiabetici orali (1/3), insulina (1/3)
Altre caratteristiche fenotipiche		Glicosuria renale, alterazioni del quadro lipidico

(tabella 3)<sup>19-21, 46-52</sup>. La spiegazione di tale fenomeno risiede fondamentalmente nelle differenze osservate tra i vari studi nella sede di "reclutamento" dei casi MODY: ambulatori di diabetologia pediatrica o ambulatori di diabetologia dell'adulto (tabella 3) e nella diverse caratteri-

stiche cliniche associate ai due difetti genetici (GCK contro TCF1). Come è stato precedentemente sottolineato infatti, i soggetti portatori di mutazioni GCK hanno una iperglicemia visibile fin dalla nascita, ma stabile nel tempo e non foriera nella maggior parte dei casi di com-

**Tabella 3**

Frequenza delle mutazioni MODY1, MODY2 e MODY 3 in differenti popolazioni Europee. I simboli \*, \*\* contraddistinguono gli studi effettuati individuando i casi indice prevalentemente (\*) o totalmente (\*\*) in ambulatori di diabetologia pediatrica, ma senza alcuna selezione preventiva sulla base del fenotipo clinico/metabolico

Rif. Bibl.	Nazione	Numero di famiglie studiate	MODY1	MODY2	MODY3
			Casi (%) <sup>c</sup>	Casi (%)	Casi (%)
29 (**)	Italia	132		41.0	
46		28		7.0	14
30 (**)		28		61.0	
19 (*)	Francia	67		63	21
47 (*)	Cecoslovacchia	61	5	31	11.5
48 (**)	Spagna	22	4	41	18
49		20		25	35
50 (**)	Germania	40		22.5	12.5
51	Norvegia	42			52
52		83		13	
20	Inghilterra	90	2	20	63
21	Danimarca	78	3	10	36

<sup>c</sup>Le percentuali sono relative al totale dei casi MODY diagnosticati nei diversi centri/nazioni

plicanze croniche tipiche del diabete poligenico. Tale situazione è ideale acciocchè il pediatra di base individui una glicemia in ogni caso anomala per -ad esempio- un bambino di pochi mesi (diciamo 115 mg/dL) e lo indirizzi per accertamenti dal diabetologo pediatra. Se lo stesso caso, come avveniva facilmente in passato, passa inosservato e si presenta al medico di base con una glicemia di 120 mg/dL (ed un carico orale, nel caso venga eseguito, che lo classifica come IGT), la decisione del medico di base sarà di proporre una dieta ipoglicidica e di non inviare dalle specialista. Le casistiche che reclutano dagli ambulatori pediatrici sono quindi "arricchite" di mutazioni della GCK.

Opposta la situazione dei mutanti HNF1- $\alpha$ /MODY3 (o HNF4- $\beta$ /MODY 1 il cui fenotipo clinico è indistinguibile): l'esordio avviene tipicamente alla pubertà o in età adulta, anche se al di sotto (non sempre) dei 25 anni di età. Il fenotipo clinico è più grave con glicemie elevate e frequente necessità di ricorrere alla terapia insulinica

(circa un terzo dei pazienti alla diagnosi)<sup>53</sup>. Le glicemie non hanno un andamento stabile come nel MODY2, ma tendono a progredire. Nei portatori di mutazioni di età adulta la frequenza delle complicanze croniche è paragonabile a quella del diabete tipo 2<sup>40-42,53-55</sup>. Sul piano metabolico, l'esame dell'andamento del carico orale di glucosio consente di distinguere tra soggetti portatori di mutazioni MODY2 o MODY3<sup>36</sup> e si rivela un prezioso strumento per indirizzare l'analisi genetica. Una caratteristica clinica frequentemente associata alle mutazioni HNF1- $\alpha$  è quella della glicosuria renale<sup>b</sup>, un indizio che può indirizzare ulteriormente alla diagnosi genetica-molecolare<sup>56,57</sup>. La diagnosi genetica-molecolare di MODY 3 (o MODY 1) ha la sua rilevanza nel diabete ad esordio adolescenziale, dove può essere confuso con il diabete tipo 1<sup>58, 59</sup>, ma anche nell'adulto perchè propeudeutica in entrambi i casi ad un eventuale passaggio dalla terapia insulinica a terapia con solfaniluree<sup>60</sup>. In questo senso il MODY 3 rappresenta un ottimo esempio

<sup>b</sup> Parlando di glicosuria renale intendiamo una perdita di glucosio per valori plasmatici attorno a 100-120 mg/dL, vale a dire ben al di sotto della cosiddetta soglia renale che i diabetologi pongono per comodità a 180 mg/dl, ma che si sa essere altamente variabile. I soggetti con MODY 3 perdono glucosio nelle urine per un deficit di un symporter Na<sup>+</sup>/Gluc del tubulo renale (ci sono almeno 2 citazioni come riferimento). Il topo KO infatti NON è diabetico perchè perde talmente tanto glucosio nelle urine da sembrare normoglicemico.

di "farmacogenomica": è stato infatti dimostrato che i farmaci "insulino-sensibilizzanti" come ad esempio la metformina non sono utili in questa forma di diabete, mentre al contrario essa risponde favorevolmente ed a lungo nel tempo alle solfaniulree<sup>60,61</sup>.

La fisiopatologia dell'iperglicemia del mutante HNF1-alfa (o 4-alfa) è ancora non del tutto chiarita ed è molto complessa. Lo HNF1-alfa e 4-alfa sono infatti fattori di trascrizione che fanno parte di un complesso "circuito" con sicuri effetti su geni fondamentali nella regolazione della trascrizione del gene dell'insulina e sui processi della secrezione glucosio-indotta<sup>62,63</sup>. In aggiunta a questo è verosimile che gli effetti si estendano anche a geni che codificano per molecole di adesione (ed altri fattori di trascrizione) che potrebbero esercitare un ruolo nell'architettura dell'isola pancreatica<sup>64</sup>. La complessità fenotipica degli individui portatori di mutazioni MODY3 o MODY1 è evidenziata dal fatto che altre funzioni, come quella renale ed epatica dove tali fattori di trascrizione sono espressi, è alterata<sup>65</sup>. Anche le mutazioni del gene *TCF1* sono "disperse" su tutto l'ambito della regione codificante, ma anche nella regione regolatoria e non sono ricorrenti (a parte una inserzione frequente di un singolo nucleotide in uno stretch di "C" nell'esone 4 con conseguente "frame-shift" della sequenza di lettura e codone di stop prematuro a valle) e per questo motivo è necessario effettuare lo screening molecolare su tutto il gene. Il gene HNF1-β determina un fenotipo particolare, associato a difetti più o meno gravi del tratto genito-urinario, e per tale motivo i pazienti vengono identificati più facilmente nell'ambulatorio di nefrologia<sup>16-18</sup>, piuttosto che in quello di diabetologia. I pazienti con mutazioni in *IPF-1* (MODY4), *NeuroD1* (MODY6), *Isl-1* e *TG2* sono estremamente rari ed al momento non è possibile delineare un fenotipo caratteristico.

Nel corso degli ultimi dieci anni è stato possibile delineare con maggiore esattezza la definizione clinica di una forma di diabete monogenico ad esordio estremamente precoce (primi sei mesi di vita), denominato diabete neonatale permanente (PNDM) (o -su nostra proposta- diabete permanente infantile, PDI) in cui sono implicati anche geni MODY. Il caso estremo è rappresentato dalla agenesia pancreatica dovuta a mutazione omozigote di *IPF-1*<sup>66</sup>: il paziente oggetto del lavoro infatti fu descritto precedentemente<sup>66</sup> ai suoi genitori e familiari, i quali avevano manifestato un diabete tipo MODY<sup>11</sup>. Nel 2001 il nostro gruppo ha descritto uno dei due casi con mutazioni omozigoti di glucocinasi (*GCK*) con fenotipo PNDM<sup>67</sup>, i cui genitori, eterozigoti avevano un classico fenotipo MODY2. Anche questi casi tuttavia, sono estremamente rari.

Da allora altri geni PNDM/PDI sono stati individuati per un totale di almeno 9 geni. La eterogeneità genetica del diabete monogenico (inteso come MODY, PNDM/PDI e sindromi genetiche da insulino-resistenza estrema) è dunque molto elevata ed in grado di fornire preziose indicazioni sulle differenti eziopatogenesi e meccanismi di malattia tutti in grado di determinare il "tratto" comune iperglicemia/diabete.

## BIBLIOGRAFIA

1. Tattersall RB. Mild familial diabetes with dominant inheritance. *Q J Med.* 1974;43:339-57
2. Tattersall RB, Fajans SS. A difference between the inheritance of classical juvenile-onset and maturity-onset type diabetes of young people. *Diabetes* 1975;24:44-53
3. Tattersall R. Maturity-onset diabetes of the young: a clinical history. *Diabet Med* 1998;15:11-4
4. Bell GI, Xiang K-S, Newman MV, Wu S-H, Wright LG, Fajans SS, Spielman RS, Cox NJ. Gene for non-insulin-dependent diabetes mellitus (maturity-onset diabetes of the young subtype) is linked to DNA polymorphism on human chromosome 20q. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1991;88:1484-88
5. Froguel P, Vaxillaire M, Sun F, et al. Close linkage of glucokinase locus on chromosome 7p to early-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* 356:162-4, 1992. Erratum in: *Nature* 1992;357:607
6. Vionnet N, Stoffel M, Takeda J, Yasuda K, Bell GI, Zouali H, Lesage S, Velho G, Iris F, Passa Ph, Froguel Ph, Cohen D. Nonsense mutation in the glucokinase gene causes early-onset non-insulin dependent diabetes mellitus. *Nature* 1992;356:721-2
7. Froguel P, Zouali H, Vionnet N, Velho G, Vaxillaire M, Sun F, Lesage S, Stoffel M, Takeda J, Passa Ph, Permutt A, Beckmann JS, Bell GI, Cohen D. Familial hyperglycemia due to mutations in glucokinase. *N Engl J Med* 1993;328:687-702
8. Yamagata K, Furuta H, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Cox NJ, Fajans SS, Signorini S, Stoffel M, Bell GI. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4-alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY 1) *Nature* 1996;384:458-60
9. Yamagata K, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Furuta H, Vaxillaire M, Southam L, Cox D, Lathrop GM, Boriraj VV, Chen Z, Cox NJ, Oda Y, Yano H, Le Beau MM, Yamada S, Nishigori H, Takeda J, Fajans SS, Hattersley AT, Iwasaki N, Hansen T, Pedersen O, Polonsky KS, Turner RC, Velho G, Chevre JC, Froguel P, Bell GI. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1-alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY 3) *Nature* 1996;384:455-8
10. Horikawa Y, Iwasaki N, Hara M, Furuta H, Yoshimori H, Cockburn BN, Lindner T, Yamagata K, Ogata M, Tomonaga O, Kuroki H, Kasahara T, Iwamoto Y, Bell GI. Mutation in hepatocyte nuclear factor 1α gene (TCF2) associated with MODY. *Nat genet* 1997;17:384-5
11. Stoffers DA, Ferrer J, Clarke WL, Habener JF. Early-onset type II diabetes mellitus (MODY 4) linked to IPF 1. *Nat Genet* 1997;17:138-9
12. Malecki MT, Jhala US, Antonellis A, Fields L, Doria A, Orban T, Saad M, Warram JH, Montminy M, Krolewski AS. Mutations in NEUROD1 are associated with the development of type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* 1999;23:323-8
13. Hansen L, Uriostel S, Petersen HV, Jensen JN, Eiberg H, Barbetti F, Serup P, Hansen T, Pedersen O. Missense mutations in the human insulin promoter factor-1 (IPF-1) gene and their relation to maturity onset diabetes of the young and late-onset type 2 diabetes mellitus in Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1323-6
14. Kristinsson SY, Thorolfsson ET, Talseth B, Steingrimsson E, Thorsson AV, Helgason T, Hreidarsson AB, Arngrimsson R. MODY in Iceland is associated with mutations in HNF-1alpha and a novel mutation in NeuroD1. *Diabetologia* 2001;44:2098-103
15. Sagen JV, Baumann ME, Salvesen HB, Molven A, Sovik O, Njolstad PR. Diagnostic screening of NEUROD1

- (MODY6) in subjects with MODY or gestational diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2005;22:1012-5
16. Montoli A, Colussi G, Massa O, Caccia R, Rizzoni GF, Civati G, Barbetti F. Familial diabetes-renal disease syndrome linked to mutations of the hepatocyte nuclear factor-1 $\alpha$  gene: description of a new family with associated liver involvement. *Am J Kidney Dis* 2002;40:397-402
  17. Bellanne-Chantelot C, Chauveau D, Gautier JF, Dubois-Laforgue D, Clauin S, Beaufrils S, Wilhelm JM, Boitard C, Noel LH, Velho G, Timsit J. Clinical spectrum associated with hepatocyte nuclear factor-1 beta mutations. *Ann Intern Med* 2004;140:510-7
  18. Edghill EL, Bingham C, Ellard S, Hattersley AT. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1 beta and their related phenotypes. *J Med Genet* 2006;43:84-90
  19. Chevre JC, Hani EH, Boutin P, Vaxillaire M, Blanche H, Vionnet N, Pardini VC, Timsit J, Larger E, Charpentier G, Beckers D, Maes M, Bellanne-Chantelot C, Velho G, Froguel P. Mutation screening in 18 Caucasian families suggest the existence of other MODY genes. *Diabetologia* 1998;41:1017-23
  20. Frayling TM, Evans JC, Bulman MP, Pearson E, Allen L, Owen K, Bingham C, Hanneman M, Sheperd M, Ellard S, Hattersley AT. Beta cell genes and diabetes: molecular and clinical characterization of mutations in transcription factors. *Diabetes* 2001;50 (Suppl 1):S94-100
  21. Johansen A, Ek J, Mortensen HB, Pedersen O, Hansen T. Half of clinically defined maturity-onset diabetes of the young patients in Denmark do not have mutations in HNF4A, GCK, and TCF1. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4607-14
  22. Frayling TM, Lindgren CM, Chevre JC, Menzel S, Wishart M, Benmezroua Y, Brown A, Evans JC, Rao PS, Dina C, Lecoeur C, Kanninen T, Almgren P, Bulman MP, Wang Y, Mills J, Wright-Pascoe R, Mahtani MM, Prisco F, Costa A, Cognet I, Hansen T, Pedersen O, Ellard S, Tuomi T, Groop LC, Froguel P, Hattersley AT, Vaxillaire M. A genome-wide scan in families with maturity-onset diabetes of the young: evidence for further genetic heterogeneity. *Diabetes* 2003;52:872-81
  23. Shimomura H, Sanke T, Hanabusa T, Tsunoda K, Furuta H, Nanjo K. Nonsense mutation of islet-1 gene (Q310X) found in a type 2 diabetic patient with a strong family history. *Diabetes* 2000;49:1597-600
  24. Bernassola F, Federici M, Corazzari M, Terrinoni A, Hribal ML, De Laurenzi V, Ranalli M, Massa O, Sesti G, McLean WHI, Citro G, Barbetti F, Melino G. Role of transglutaminase 2 in glucose tolerance: knockout mice studies and a putative mutation in a MODY patient. *FASEB J* 2002;16:1371-8
  25. Raeder H, Johansson S, Holm PI, Haldorsen IS, Mas E, Sbarra V, Neramoen I, Eide SA, Grevle L, Bjorkhaug L, Sagen JV, Aksnes L, Sovik O, Lombardo D, Molven A, Njolstad PR. Mutations in the CEL VNTR cause a syndrome of diabetes and pancreatic exocrine dysfunction. *Nat Genet* 2006;38:54-62
  26. Iafusco D, Stazi MA, Cotichini R, Cotellessa M, Martinucci ME, Mazzella M, Cherubini V, Barbetti F, Martinetti M, Cerutti F, Prisco F and the Early Onset Diabetes Study Group of the Italian Society of Paediatric Endocrinology and Diabetology. Permanent diabetes mellitus in the first year of life. *Diabetologia* 2002;45:798-804
  27. Edghill EL, Dix RJ, Flanagan SE, Bingley PJ, Hattersley AT, Ellard S, Gillespie KM. HLA genotyping supports a nonautoimmune etiology in patients diagnosed with diabetes under the age of 6 months. *Diabetes* 2006;55:1895-8
  28. Guazzini B, Gaffi D, Mainieri D, Multari G, Cordera R, Bertolini S, Pozza G, Meschi F, Barbetti F. Three novel missense mutations in the glucokinase gene (G80S; E221K; G227C) in Italian subjects with maturity-onset diabetes of the young (MODY). *Mutations in brief no. 162. Online. Hum Mutat* 1998;1:136
  29. Massa O, Meschi F, Cuesta-Munoz A, Caumo A, Cerutti F, Toni S, Cherubini V, Guazzarotti L, Sulli N, Matschinsky FM, Lorini R, Iafusco D, Barbetti F; Italian Society of Paediatric Endocrinology and Diabetes (SIEDP). High prevalence of glucokinase mutations in Italian children with MODY. Influence on glucose tolerance, first-phase insulin response, insulin sensitivity and BMI. *Diabetes Study Group of the Italian Society of Paediatric Endocrinology and Diabetes (SIEDP). Diabetologia* 2001;44:898-905
  30. Mantovani V, Salarì S, Cerreta V, Bastai D, Cenci M, Ragni L, Zucchini S, Parente R, Cicognani A. Identification of eight novel glucokinase mutations in Italian children with maturity-onset diabetes of the young. *Hum Mut* 2003;22:338
  31. Matschinsky FM. Banting Lecture 1995. A lesson in metabolic regulation inspired by glucokinase glucose sensor paradigm. *Diabetes* 1996;45:223-41
  32. Matschinsky FM. Regulation of pancreatic beta-cell glucokinase: from basics to therapeutics. *Diabetes* 2002;51 (Suppl 3):S394-404
  33. Byrne MM, Sturis J, Clement K, Vionnet N, Pueyo ME, Stoffel M, Takeda J, Passa P, Cohen D, Bell GI, Velho G, Froguel Ph, Polonsky KS. Insulin secretory abnormalities in subjects with hyperglycemia due to glucokinase mutations. *J Clin Invest* 1994;93:1120-30
  34. Velho G, Petersen KF, Perseghin G, Hwang JH, Rothman DL, Pueyo ME, Cline GW, Froguel P, Shulman GI. Impaired hepatic glycogen synthesis in glucokinase-deficient (MODY-2) subjects. *J Clin Invest* 1996;98:1755-61
  35. Velho G, Blanché H, Vaxillaire M, Bellanè-Chantelot C, Pardini VC, Timsit J, Passa Ph, Deschamp I, Robert JJ, Weber IT, Marotta D, Pilkis SJ, Lipkind GM, Bell GI, Froguel Ph. Identification of 14 new glucokinase mutations and description of the clinical profile of 42 MODY-2 families. *Diabetologia* 1997;40:217-24
  36. Stride A, Vaxillaire M, Tuomi T, Barbetti F, Njolstad PR, Hansen T, Costa A, Conget I, Pedersen O, Sovik O, Lorini R, Groop L, Froguel P, Hattersley AT and The MODY GIFT Consortium. The genetic abnormality in the beta-cell determines the response to an oral glucose load. *Diabetologia* 2002;45:427-35
  37. Prisco F, Iafusco D, Franzese A, Sulli N, Barbetti F. MODY 2 presenting as neonatal hyperglycaemia: a need to re-shape the definition of "neonatal diabetes"  $\alpha$ . *Diabetologia* 2000;43:1331-2
  38. Sun F, Knebelmann B, Pueyo ME, Zouali H, Lesage S, Vaxillaire M, Passa Ph, Cohen D, Velho G, Antignac C, Froguel P. Deletion of the donor splice site of intron 4 in the glucokinase gene causes maturity onset diabetes of the young. *J Clin Invest* 1993;92:1174-80
  39. Gloyn AL. Glucokinase (GCK) mutations in hyper- and hypoglycemia: maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemia of infancy. *Hum Mutat* 2003;22:353-62
  40. Fajans SS, Bell GI, Polonsky KS. Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity onset diabetes of the young. *N Engl J Med* 2001;345:971-80
  41. Stride A, Hattersley AT. Different genes, different diabetes: lessons from maturity-onset diabetes of the young. *Ann Med* 2002;34:207-16
  42. Vaxillaire M, Froguel P. Genetic basis of maturity-onset diabetes of the young. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2006;35:371-84
  43. Terauchi Y, Sakura H, Yasuda K, Iwamoto K, Takahashi N, Ito K, Kasai H, Suzuki H, Ueda O, Kamada N, et al. Pancreatic beta-cell-specific targeted disruption of gluco-

- kinase gene. Diabetes mellitus due to defective insulin secretion to glucose. *J Biol Chem* 1995;270:30253-6
44. Postic C, Shiota M, Niswender KD, Jetton TL, Chen Y, Moates JM, Shelton KD, Lindner J, Cherrington AD, Magnuson MA Dual roles for glucokinase in glucose homeostasis as determined by liver and pancreatic beta cell-specific gene knock-outs using Cre recombinase. *J Biol Chem* 1999;274:305-15
  45. Lorini R, Klersy C, d'Annunzio G, D'Amato E, Massa O, Cotellessa M, Prisco F, Bellannè-Chantelot C, Barbetti F and the Diabetes Study Group of the Italian Society of Pediatric Endocrinology and Diabetology. Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) in children with incidental hyperglycemia. A multicenter Italian study on 172 families. In preparation.
  46. Gragnoli C, Cockburn BN, Chiaromonte F, Gorini A, Marietti G, Marozzi G, Signorini AM: Early-onset type II diabetes mellitus in Italian families due to mutations in the genes encoding hepatic nuclear factor 1 $\alpha$  and glucokinase. *Diabetologia* 2001;44:1326-9
  47. Pruhova S, Ek J, Lebl J, Zumnik Z, Saudek F, Andel M, Pedersen O, Hansen T: Genetic epidemiology of MODY in Czech republic: new mutations in the MODY genes HNF-4 $\alpha$ , GCK and HNF-1 $\alpha$ . *Diabetologia* 2003;46:291-5
  48. Barrio R, Bellané-Chantelot C, Moreno JC, Morel V, Calle H, Alonso M, Mustieles C: Nine novel mutations in Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) candidate genes in 22 Spanish families. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2532-9
  49. Costa A, Bescos M, Vehlo G, Chevre JC, Vidal J, Sesmilo G, Bellanne-Chantelot C, Froguel P, Casamitjana R, Rivera-Fillat F, Gomis R, Conget I: Genetic and clinical characterization of maturity-onset diabetes of the young in Spanish families. *Eur J End* 2000;142:360-6
  50. Toaima D, Nake A, Wendenburg J, Praedicow K, Rohayem J, Engel K, Galler A, Gahr M, Lee-Kirsch MA. Identification of a novel GCK and HNF1A/TCF1 mutations and polymorphisms in German families with maturity-onset diabetes of the young. *Hum Mut* 2005;25:503-4
  51. Bjorkhaug L, Sagen JV, Thorsby P, Sovik O, Molven A, Njolstad PR: Hepatocyte nuclear factor 1- $\alpha$  gene mutations and diabetes in Norway. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:920-31
  52. Sagen JV, Odili S, Bjorkhaug L, Zelent D, Buettger C, Kwagh J, Stanley C, Dahl-Jorgensen K, de Beaufort C, Bell GI, Han Y, Grimsby J, Taub R, Molven A, Sovik O, Njolstad PR, Matschinsky FM: From clinicogenetic studies of maturity-onset diabetes of the young to unraveling complex mechanisms of glucokinase regulation. *Diabetes* 2006;55:1713-22
  53. Velho G, Vaxillaire M, Boccio V, Charpentier G, Froguel Ph. Diabetes complications in NIDDM kindreds linked to the MODY 3 locus on chromosome 12q. *Diabet Care* 1996;19:915-9
  54. Isomaa B, Henricsson M, Lehto M, Forsblom C, Karanko S, Sarelin L, Hagglblom M, Groop L. Chronic diabetic complications in patients with MODY3 diabetes. *Diabetologia* 1998;41:467-73
  55. Pearson ER, Velho G, Clark P, Stride A, Shepherd M, Frayling TM, Bulman MP, Ellard S, Froguel P, Hattersley AT. beta-cell genes and diabetes: quantitative and qualitative differences in the pathophysiology of hepatic nuclear factor-1alpha and glucokinase mutations. *Diabetes* 2001;50 Suppl 1:S101-7
  56. Barbetti F, Fidone F, Bonfanti R, Prisco F, Carducci C, Romano V, Leuzzi V, Meschi F. Increased amino acid urinary excretion and renal glycosuria in a family with a mutation (Y122C) in the HNF1- $\alpha$  gene (MODY 3). *Diabetes* 1998;47 (Suppl 1) A399
  57. Stride A, Ellard S, Clark P, Shakespeare L, Salzmann M, Shepherd M, Hattersley AT. Beta-cell dysfunction, insulin sensitivity, and glycosuria precede diabetes in hepatocyte nuclear factor-1alpha mutation carriers. *Diabetes Care* 2005;28:1751-6
  58. Moller AM, Dalgaard LT, Pociot J, Nerup J, Hansen T, Pedersen O. Mutations in the hepatocyte nuclear factor 1 $\alpha$  gene in caucasian families originally classified as having type 1 diabetes. *Diabetologia* 1998;41:1528
  59. Hathout EH, Cockburn BN, Mace JW, Sharkey J, Chen-Daniel J, Bell GI. A case of hepatocyte nuclear factor-1 alpha diabetes/MODY3 masquerading as type 1 diabetes in a Mexican-American adolescent and responsive to a low dose of sulfonylurea. *Diabetes Care* 22:867-8, 1999
  60. Pearson ER, Starkey BJ, Powell RJ, Gribble FM, Clark PM, Hattersley AT. Genetic cause of hyperglycemia and response to treatment in diabetes. *Lancet* 2003;362:1275-81,
  61. Herman WH, Fajans SS, Ortiz FJ, Smith MJ, Sturis J, Bell GI, Polonski KS, Halter JB. Abnormal insulin secretion, not insulin resistance, is the genetic or primary defect of MODY in the RW pedigree. *Diabetes* 1994;43:40-6
  62. Boj SF, Parrizas M, Maestro MA, Ferrer J. A transcription factor regulatory circuit in differentiated pancreatic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:14481-6
  63. Shih DQ, Screenan S, Munoz KN, Philipson L, Pontoglio M, Yaniv M, Polonsky KS, Stoffel M. Loss of HNF-1alpha function in mice leads to abnormal expression of genes involved in pancreatic islet development and metabolism. *Diabetes* 2001;50:2472-80
  64. Yamagata K, Nammo T, Moriwaki M, Ihara A, Iizuka K, Yang Q, Satoh T, Li M, Uenaka R, Okita K, Iwahashi H, Zhu Q, Cao Y, Imagawa A, Tochino Y, Hanafusa T, Miyagawa J, Matsuzawa Y. Overexpression of dominant-negative mutant hepatocyte nuclear factor-1 alpha in pancreatic beta-cells causes abnormal islet architecture with decreased expression of E-cadherin, reduced beta-cell proliferation, and diabetes. *Diabetes* 2002;51:114-23
  65. Pontoglio M, Prie D, Cheret C, Doyen A, Leroy C, Froguel P, Velho G, Yaniv M, Friedlander G. HNF1alpha controls renal glucose reabsorption in mouse and man. *EMBO Rep*; 2000;1:359-65
  66. Stoffers DA, Zinkin NT, Stanojevic V, Clarke WL, Habener JF. Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in the human IPF1 gene coding sequence. *Nat Genet* 1997;15:106-10
  67. Njolstad PR, Sovik O, Cuesta-Munoz A, Bjorkhaug L, Massa O, Barbetti F, Undlien D, Shiota C, Magnuson MA, Molven A, Matschinsky FM, Bell GI. Neonatal diabetes mellitus due to complete glucokinase deficiency. *New Engl J Med* 2001;344:1588-92